

## IV 研究発表

### 1. 他誌発表 (抄録)

Identification of species in *Aspergillus section Flavi bas ed* on sequencing of the mitochondrial cytochrome *b* gene. L. Wang<sup>1)</sup>, K. Yokoyama<sup>1)</sup>, H. Takahashi, N. Kase, Y. Hanaya<sup>2)</sup>, K. Yashiro<sup>2)</sup>, M. Miyaji<sup>1)</sup>, K. Nishimura<sup>1)</sup>: International J. Food Microbiology, 71, 75-86 (2001)

アフラトキシン産生菌種である *A. flavus* などを含む *section Flavi* は近接種の1群をなすため、しばしば形態学的な同定が困難なことがある。そこで、チトクローム *b* の部分的な遺伝子解析から、分子分類を行った。類別された7つのDNAタイプは、走査型電顕による分生子表面の観察結果などからもその関係が支持された。これらの結果は、この遺伝子解析がその同定に極めて有効であることを示した。

1) 千葉大学真菌医学研究センター 2) キッコーマン株式会社

### イランにおけるピスタチオナッツの生産の現状

高橋治男, 岡野清志<sup>1)</sup>, 一戸正勝<sup>2)</sup>: Mycotoxins, 51(2), 95-102 (2001).

ピスタチオナッツ畑から採取した落下果実に *A. flavus* の集落が認められ、果実への汚染源となっている可能性が考えられた。したがって、アフラトキシン汚染を防ぐには、栽培から乾燥、製品に至るまでの全工程での衛生管理が重要と考えられた。また、製品のピスタチオナッツ汚染レベルを低下させるには、変色粒にアフラトキシン汚染が比較的高頻度で認められたことから、ナッツ粒の色彩選別が有効と考えられた。

1) マイコトキシン検査協会 2) 東京家政大学

ナリジキシン酸耐性 *Shigella sonnei* の増加とその耐性機構 内村真佐子, 岸田一則, 小岩井健司: 感染症学雑誌, 75, 923-930 (2001)

千葉県で分離された *Shigella sonnei* 114株のうち19株でNA耐性が認められた。インド由来株と国内由来株は異なるPFGEパターンを示し、別のクラスターに分類された。NA耐性19株の *gyrA* 遺伝子のキノロン耐性決定領域を増幅し塩基配列を調べた結果、Ser-83 (11株) あるいはAsp-87 (8株) に変異が認められた。Ser-83変異株はAsp-87変異株に比べ、NAおよび7種類のニューキノロン剤に対し、わずかではあるが高いMIC値を示した。*S. sonnei* において、*gyrA* 遺伝子変異はNA耐性獲得に重要な役割を果たしていることが示唆された。

「牛の丸焼き」を原因食品とする腸管出血性大腸菌O157による集団発生—千葉県 山本準子<sup>1)</sup>, 石川淳<sup>1)</sup>, 宮本美紀子<sup>1)</sup>, 野村隆司<sup>1)</sup>, 内村真佐子, 小岩井健司: 病原微生物検出情報, 22, 139-140

2000年10月28日に船橋市内で開催された船橋市農水産祭・畜産フェスティバルで提供された「牛の丸焼き」を原因食品とする腸管出血性大腸菌O157による集団発生は、二次感染事例を含めて有症者30名、無症状病原体保有者28名、総計58名の患者、感染者を出し、同年12月22日に終息した。本事例は1) 感染症と食中毒

の両者にまたがるものであり、感染症対策部門と食品保健部門の一体的対応が問われたこと、2) 喫食者が数百人以上に及ぶとともに、正確な喫食者の同定が行政サイドからは困難であったこと、3) 患者・感染者が水面上に存在する可能性があり、これらの患者等からの二次感染が危惧されたこと等の特徴を有し、地域全体の健康危機管理のあり方が問われた事例であった。

汚染原因等については、牛肉の流通経路、フェスティバル会場等での取去、ふきとり検査等のすべての検体でO157は分離されず、確定できなかった。本事例では、船橋市内のA保育園において11名の二次感染が発生した。

本事例の原因施設であるフェスティバルは、食品衛生法に基づく営業許可対象ではなかったが、同様のバザー、文化祭、催事場等のイベントでの短時間の食品提供における安全確保と食中毒事例が発生した場合の対応が重要な課題であると考えられる。

1) 船橋保健所

千葉県における結核・感染症発生動向調査：小児対象感染症の15年間の経年的変化 (1987~2001) 市村 博, 三瓶憲一, 小倉誠, 石井俊靖, 堀内 清: 千葉県医師会雑誌, 第54巻, 第4号, 148-163 (2002)

1987年厚生省委託事業、感染症サーベイランス事業は結核、性感染症を加えてオンラインシステムにより新たにスタートした。1998年からは調査年齢区分の見直しがあり、事業名も「千葉県結核・感染症発生動向調査」に改名された。本調査は県医師会、定点医療機関の協力のもとに実施されており、県内の感染症の感染症の監視体制が敷かれて15年が経過した。今回は、収集された資料をもとに小児を対象とした感染症の発生動向を検討した。

### 2. 学会発表 (口演, 示説等の抄録)

千葉県東葛飾地域を中心に発生した腸管出血性大腸菌O157:H7による広域集団感染事例 内村真佐子, 横山栄二, 岸田一則, 依田清江, 久門勝利, 小岩井健司: 第22回日本食品微生物学会, 2001. 10. 8 大阪市

千葉県東葛飾地域を中心に関東1都5県と山形県において、EHEC O157:H7 (VT1&2) による、患者・感染者約260名に及ぶ大規模な広域集団感染事例が発生した。患者の喫食状況調査から原因が疑われた食肉加工食品を中心に検査を行った結果、「牛たたき」からEHEC O157:H7 (VT1&2) が分離された。また、原料肉 (輸入肉) から患者由来株と同じPFGEパターンのEHEC O157:H7 が分離され、患者発生から原因食品の原材料まで追跡ができた。

千葉県で分離された腸管出血性大腸菌のPFGEによる解析 小岩井健司, 内村真佐子, 横山栄二, 岸田一則, 依田清江, 久門勝利: 第40回千葉県公衆衛生学会, 2002. 2. 15, 千葉県

千葉県では平成13年度「腸管出血性大腸菌感染症の菌株取扱要領」を定め、diffuse outbreakの早期発見および原因の解明を行うために県内で分離された腸管出血性大腸菌 (EHEC) のPFGE解析を行ってきた。

2001年10月現在、当所には361株のEHECが搬入され、その内訳は、ヒト由来359株、食品由来2株、血清型別ではO157が317

株 (ヒト由来315株, 食品由来2株), 026が40株, その他の血清型が4株であった。

これらのうち333株のPFGE解析を行った。O157・VT1 & VT2産生株で同一泳動パターンあるいは同一のグループに属すると解析されたのは7グループで, このうち4グループの株は感染研, 埼玉県および東京都との情報交換により, 埼玉県で製造されたキムチから分離されたO157・VT1 & VT2産生株と同一のグループに属する株であった。

O157・VT2産生株が同一泳動パターンであったのは家族内発生を除き2グループで, 疫学調査の結果, このうち1グループでは多くの感染者が8月上旬に同一の飲食店を利用していることが明らかとなったが感染源を明らかにすることはできなかった。

O26・VT1産生株では家族内発生あるいは接触者由来株を除き, 同一泳動パターンは2株であったが関連は不明であった。また, O26・VT1 & VT2産生株は集団発生例以外に同一パターンを示す株はみられなかった。

**食肉中の *Listeria monocytogenes* 血清群4に対する市販増菌培地の比較** 横山栄二, 久門勝利: 平成13年度日本獣医公衆衛生学会, 2002. 2. 11, 広島市

食品起因リステリア症の集団発生が海外で報告されており, 原因血清型は血清群4であることが多い。今回, ヒトの集団発生の原因となることが多い血清群4に対する増菌効果を市販増菌培地で比較した。

豚挽肉22検体, 牛挽肉43検体, 豚牛合い挽き肉10検体, 鶏挽肉3検体, 牛レバー33検体の合計111検体から, MOPS buffer を添加した *Listeria Enrichment Broth* (MEB), UVM broth I およびIIによる二段階増菌 (UU), UVM broth I および Fraser broth による二段階増菌 (UF), L-PALCAM broth (PAL) の4種を使用して *Listeria monocytogenes* 血清群4の検出状況を比較した。

*L. monocytogenes* 血清群4は, MEBで10検体, PALで6検体, UUで2検体, UFで1検体から検出された。UUはUSDAが食肉からの *L. monocytogenes* 検出法として指定しているにも関わらず, 肉中の血清群4に対する増菌効果が劣ることが明らかとなった。さらに, UVM broth I で *L. monocytogenes* が検出されたにも関わらず二段階目の増菌培地であるUVM IIから検出されないことがあり, UVM brothの有効性に疑問が残った。

**PCRによる保存炭疽菌株の病原因子保有状況** 横山栄二, 岸田一則, 久門勝利: 第14回地研全国協議会関東甲信静支部細菌研究会, 2002. 2. 15, 横浜市

米国における炭疽菌 (*Bacillus anthracis*) によるバイオテロの発生以来, 県内において不審な粉末検体に対する *B. anthracis* 検査の必要性が生じた。そこで, ルーチンの技術・試薬等が流用可能なPCRを *B. anthracis* 検査に導入することを試みた。

*B. anthracis* 鑑別用の陽性コントロール株 (Pasteur II 苗由来2株, Sterneワクチン株由来2株, Davis株由来3株) として, 他研究機関から分与を受けて当所および関係機関に保存されていた *B. anthracis* 7株を, Ramisseらが報告したprimerを使用して multiplex PCRにより調査したところ, Pasteur II 苗由来2株, Sterne ワクチン株由来1株および Davis 株由来1株は由来どお

りの病原因子を保有していたが, 残り3株は病原因子の保有状況が由来とは異なっていた。

PCRの際には反応が良好に行われたかどうかをチェックするための陽性コントロールが必要となるが, 今回の調査で明らかとなったように陽性コントロール用菌株として分与を受けた菌株が必ずしも由来どおりの病原因子を保有しておらず, 陽性コントロール用菌株の選択には注意が必要であると思われる。

**原発性敗血症3症例から検出された *Vibrio vulnificus* の性状解析** 横山栄二, 小岩井健司: 第35回腸炎ビブリオシンプジウム, 2001. 10, 三重県津市

*Vibrio vulnificus* は基礎疾患のある人に感染した場合, 致命的な敗血症を起こすことが知られており, その感染経路は魚介類の生食によることが多い。2000年夏期に全国で発生が報告され, 千葉県においても3例の症例が確認されたので, その症例から検出された *V. vulnificus* について性状解析を行った。

生化学性状試験およびPCRにより同定を行い, *V. vulnificus* と同定された菌株については, PFGEおよびRAPDのバンドパターンを, Diversity Database (PDI) を用いてUPGMAクラスター解析を実施した。

3症例から検出されたは菌株は, 生化学性状およびPCRにより *V. vulnificus* と同定された。RAPDに基づくUPGMAクラスター解析の結果, 3つの症例から分離された *V. vulnificus* はそれぞれ異なるクラスターに属していた。このことから, 今回の *V. vulnificus* 感染の多発が, 他の病原細菌で認められるような, 特定 clone の自然界における増殖による発生増加でないことが示唆された。本邦ではC型肝炎キャリアが多数存在することが推定されており, 今後, ハイリスクグループが増加することが予測されるため, ハイリスクグループへの啓蒙活動が重要となると思われる。

**イエネズミから分離された *Salmonella Typhimurium* の性状解析** 横山栄二, 光眞明子<sup>1)</sup>, 中川かほる<sup>1)</sup>, 壁谷英則<sup>1)</sup>, 見上彪<sup>1)</sup>, 勝部泰次<sup>1)</sup>, 丸山総一<sup>1)</sup>: 平成13年度関東地区日本獣医公衆衛生学会, 2001. 9. 23, 神奈川県大磯町

1997年から1998年にかけて横浜市の2ヶ所の雑居ビル (AおよびB) に生息するイエネズミから分離された *Salmonella Typhimurium* 56株についてファージ型別, 薬剤感受性, DNA fingerprintingを行った。

PCR法により *S. Typhimurium* 56株中54株がファージ型DT104またはU302と同定された。DT104またはU302であった54株中, Aビルで捕獲されたネズミから分離された28株中25株がACSTの薬剤耐性パターンであり, 3株がS耐性であった。一方, Bビルで捕獲されたネズミから分離された26株全てがA耐性であった。DT104またはU302と同定された54株は, 薬剤耐性パターンに関わりなく同一RAPDパターンを示した。

以上のことから, *S. Typhimurium* が同一コロニー内のネズミの間で維持されているものと推察された。今後, ネズミから分離された株についてより詳細な分子疫学的解析を行う必要があると思われる。

1) 日本大学獣医公衆衛生学研究室

**粉末検体に対する炭疽菌検査について** 横山栄二, 岸田一則, 久門勝利:平成13年度千葉県獣医学会, 2002. 3. 3, 千葉市

米国における炭疽菌 (*Bacillus anthracis*) によるバイオテロの発生以来, 県内において不審な粉末検体に対する *B. anthracis* 検査の必要性が生じた。今回, 不審な粉末検体の *B. anthracis* 検査依頼についてPCRを応用して対応したので報告する。

検査手順は, 粉末検体をグラム染色して直接鏡検を行い, 芽胞様物質の有無を確認し, 芽胞様物質が確認された場合には粉末検体の浮遊液を対象としてPCRおよび平板培地による分離培養を行い, 芽胞様物質が確認されない場合には平板培地での分離培養および Brain Heart Infusion Broth (Difco) による増菌培養を行い, 増菌培養後にPCRおよび平板培地による分離培養を行った。PCRは, Ramisse らの報告した primer を用いて multiplex PCRで調査した。平板培地による分離培養は, 羊血液寒天培地 (BBL) およびMYP寒天培地 (BBL) を用い, 37℃で培養後コロニー形状, 溶血性を観察を観察し, 必要に応じて運動性を検査した。

現在までに粉末検体40検体を検査したところ, 直接鏡検で芽胞様物質が確認された検体はなく, multiplex PCRでも *B. anthracis* の病原因子のバンドは検出されなかった。

#### 事務所ビルにおけるVOCs濃度の経時変化について

中山和好, 日野隆信, 今関久和<sup>1)</sup>, 中橋ひろみ<sup>2)</sup>:第38回全国衛生化学技術協議会年会, 2001, 11. 8-9, 千葉市

新築事務所ビルの室内空気中のVOCs (48物質) を月1回2年間測定した。トルエンなど初期に高い濃度を示し減少して行くのに対し, 建材由来と思われるホルムアルデヒド, アセトアルデヒドなど数物質は夏季に濃度が上昇し外気温と相関を示す事を報告した。

1) 佐倉保健所 2) 佐倉保健所(現:木更津保健所)

#### 健康危機管理対策関連の苦情事例

矢崎廣久, 福島悦子, 加瀬信明, 中山和好, 高橋治男:第14回地研全国協議会関東甲信静理化学部会研究会, 2002. 2. 22, 川崎市

千葉県の危機管理対策基本指針の策定を機に, 保健所等から化学性の中毒や苦情事例などが持ち込まれている。土間板に付着した臭くて寝られないとの灰白色物質は薄層クロマト (TLC), FT赤外分光 (FT-IR), イオンクロマト (IC), X線マイクロアナライザーなどにより, 「スラグセメント」と決定された。そして, 推定試験も行い, この粉末の生成過程も明らかにした。さらに最近, 毒物鑑定依頼で青色ペースト状物質の塗られたパンが持ち込まれたが, このペーストを3成分に分離し, TLC, FT-IR, IC, UVなどの分析を行った。その結果, 当該物質は約9割のショ糖と1割の化成肥料, そして少量の青色1号の食用色素を練り合わせた手の込んだものと判明, とりあえず事なきを得た。

#### 特異な剤形の鎮咳去痰剤の品質評価方法について

加瀬信明, 矢崎廣久, 福島悦子:第14回地研全国協議会関東甲信静理化学部会研究会, 2002. 2. 22, 川崎市

GMPの査察同行と収去品の承認規格検査を通じて, 試験法な

どに問題のあった特異な剤形の鎮咳去痰剤について, 問題点を具体的にまとめた。おもな点は, 承認後に40年以上もそのまま改善されず作り続け, ある程度時代の技術水準に見合った変更がなかったため, 品質管理試験において規定された水分量が計測不能だったり, 定性確認のための試料液が量的に得られなかったりした。また, 製品は成分として, 塩化アンモニウムを乾燥葉に添加しているが, 内服を前提としたこの成分さえ, S51年の第9局方から削除されているにも係らず効能効果を謳っていた。

### 3. 著書 (抄録)

#### 食品安全性セミナー 4 動物用医薬品・飼料添加物

永田知子 (分担執筆)

細貝祐太郎, 松本昌雄 (監修), 中央法規出版株式会社, 2001.

食生活の変遷とそれに伴った動物用医薬品等の使用量の推移, 動物疾病と対処, 食品衛生上の法規制, 摂取時のリスク, 試験法, 残留実態について解説した。著者は, 残留実態について執筆した。